

组织蛋白酶 K 与心血管疾病

刘颖娴 综述, 李向平 审校

(中南大学湘雅二医院心内科, 湖南省长沙市 410078)

[关键词] 内科学; 组织蛋白酶 K; 心血管疾病; 动脉粥样硬化

[摘要] 组织蛋白酶 K 是溶酶体半胱氨酸蛋白酶中的番木瓜酶超家族成员, 它能降解细胞外基质, 还包含了独特的溶胶原活性。组织蛋白酶 K 参与心血管疾病的多个致病过程, 与动脉粥样硬化的发生发展密切相关, 是血管重塑、腹主动脉瘤生长和破裂过程中的主要胶原酶之一, 还可能参与主动脉瓣狭窄的致病过程。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

蛋白水解酶能调节细胞外基质重塑, 参与心血管疾病许多致病过程。除基质金属蛋白酶等常见的蛋白水解酶以外, 最近许多研究发现还有一种溶酶体蛋白水解酶, 即组织蛋白酶 (cathepsin), 它在细胞外基质重塑中起核心作用, 并已证实参与心血管疾病进展。体内外实验结果表明组织蛋白酶在动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 各阶段表达水平存在差异, 敲除组织蛋白酶 S 基因的小鼠动脉硬化程度减弱^[1]; 血清组织蛋白酶 L 和 S 可能是 As 的一种生物学诊断指标^[2,3]; 组织蛋白酶 B 可能是一种有潜力的影像学诊断工具^[4]; 而组织蛋白酶 K 和 S 抑制剂则能有效治疗骨质疏松症和骨关节炎^[5]。本文重点综述组织蛋白酶 K 与心血管疾病之间关系的研究现状。

1 组织蛋白酶概述

组织蛋白酶是一类在酸性环境中被活化的溶酶体蛋白酶, 包括组织蛋白酶 B、C、D、F、H、K、L、S、V 和 W 等。组织蛋白酶分布于全身多处, 并由于底物的广泛特异性, 可对许多分子进行修饰、加工, 使其活化或失活, 使组织蛋白酶参与基质降解、血管增生、细胞迁移和凋亡等重要的生物活动^[6]。最近有学者经蛋白质组分析发现, 组织蛋白酶 K、B、L 和 S 可作为 As 的一种生物标志, 在单核细胞来源的巨噬细胞受氧化型低密度脂蛋白 (oxidized low density lipoprotein, ox-LDL) 刺激后表达上调, 而组织蛋白酶 H 则表达下调^[7], 提示组织蛋白酶与心血管疾病致病有关。其中组织蛋白酶 K 属于溶酶体半胱氨酸蛋白酶中的番木瓜酶超家族成员, 于 1999 年被克隆成功, 又称 cathepsin O₂、cathepsin X 或 cathepsin O。它是由一个 15 残基 N-端信号肽, 一个 99 残基前肽和一个成熟的含 215 个氨基酸的蛋白质组成的复合物, 基因定位于 1q21.2, 翻译产物为前组织蛋白酶原 K。组织蛋白酶 K 最初发现于破骨细胞互补 DNA 文库, 在动脉、乳腺、卵巢、胃和肺

等组织中亦能找到它的存在。敲除组织蛋白酶 K 基因的小鼠表现为骨样硬化症, 人类缺乏组织蛋白酶 K 基因会导致致密性成骨不全症^[8]。已有大量数据表明组织蛋白酶 K 与骨代谢关系密切, 其抑制剂可治疗骨质疏松症而成为研究热点^[9]。另有研究发现血清组织蛋白酶 K 浓度在慢性类风湿性关节炎病人中显著升高^[10]。组织蛋白酶 K 是迄今为止被发现的最强大的哺乳动物弹性蛋白酶 (中性条件下)^[10] 和胶原酶 (酸性条件下)^[10,11], 能降解细胞外基质, 还包含了独特的溶胶原活性, 它参与了心血管疾病的多个致病过程。

2 组织蛋白酶 K 与动脉粥样硬化

2.1 动脉粥样硬化时组织蛋白酶 K 的分泌与表达

许多人体和动物研究证明, As 和腹主动脉瘤常发生于复杂的流体状态如逆流、低平均管壁切应力和高振荡切应力等情况下。研究发现, 高振荡切应力增加内皮细胞中组织蛋白酶 K mRNA 和蛋白水平的表达和活性, 内皮细胞中的组织蛋白酶 K 有助于切应力相关的细胞外基质蛋白水解活性的调节, 内皮细胞中组织蛋白酶 K 的表达与人冠状动脉内弹力层的破裂显著相关。这些结果提示组织蛋白酶 K 是组织蛋白酶家族中对切应力敏感的成员, 通过切应力的调节, 组织蛋白酶 K 在血管壁的细胞外基质重塑过程中起重要作用^[12]。由于冠状动脉有独特的多分支、多弯曲, 冠状动脉粥样硬化时可产生多处狭窄的解剖学特点, 在心肌收缩与舒张过程中冠状动脉血流易产生高振荡, 冠状动脉严重狭窄导致侧枝循环开放时出现逆流供血等因素均可增加血流的切应力。因此, 在冠状动脉粥样硬化等病理状态下可引起内皮细胞分泌组织蛋白酶 K 增加。

已证实 As 斑块处组织蛋白酶 K 蛋白的表达增加。早在 1998 年, Sukhova 等^[13] 就发现组织蛋白酶 K 存在于 As 病变中, 而正常血管中组织蛋白酶 K 表达很少; 早期 As 斑块中组织蛋白酶 K 主要表达于内膜和中膜的平滑肌细胞; 进展的粥样斑块中, 组织蛋白酶 K 主要定位于纤维帽的巨噬细胞和平滑肌细胞中。Lutgens 等^[1] 进一步指出, 组织蛋白酶 K 存在于多种细胞如巨噬细胞、平滑肌细胞和内皮细胞中; 其 mRNA 和蛋白表达水平在进展的粥样斑块中表达最高, 其次

[收稿日期] 2007-09-10

[修回日期] 2007-12-05

[作者简介] 刘颖娴, 硕士研究生, 研究方向为冠心病与动脉粥样硬化发病机制及防治, E-mail 为 lyx5678@sina.com.cn。李向平, 博士, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向为冠心病发病机制及防治, E-mail 为 lixp@medmail.com.cn。

为含有血栓的粥样斑块,早期As病变最低,但仍高于正常血管。提示组织蛋白酶K参与As斑块形成、发展、破裂和破裂后修复的全过程。

2.2 组织蛋白酶K缺乏对动脉粥样斑块的影响

Lutgens等^[1]在基因敲除的动物模型上证实缺失组织蛋白酶K能减轻As。该实验中,组织蛋白酶K基因敲除且载脂蛋白E基因敲除(apolipoprotein E-knockout, ApoE^{-/-})小鼠粥样斑块的总面积比单纯载脂蛋白E^{-/-}小鼠减少41.8%,处于进展期的粥样斑块数量显著减少。在进展的小鼠动脉硬化损伤局部,载脂蛋白E^{-/-}小鼠缺乏组织蛋白酶K会导致斑块高纤维化^[1]。虽然大多数组织蛋白酶家族成员具有促弹力组织溶解和溶胶原活性,组织蛋白酶K仍是最强大的溶胶原酶,能够在多个位点解离胶原蛋白的三倍螺旋体结构,使其更容易被明胶酶溶解。它独一无二的溶胶原特性使细胞外基质胶原成份降解,这可能可以解释组织蛋白酶K基因敲除且载脂蛋白E^{-/-}小鼠的斑块纤维化。更重要的是,缺乏组织蛋白酶K使小鼠动脉斑块下中层弹力蛋白崩解减少,提示缺少组织蛋白酶K能阻止动脉瘤形成。

缺乏组织蛋白酶K改变斑块性状的现象不仅由于蛋白水解活性降低,还与激活转化生长因子 β (transforming growth factor beta, TGF- β)信号通路有关,提示可能有炎症参与。TGF信号通路能使动脉硬化损伤纤维化,抑制TGF信号通路则会加速As进展,导致斑块不稳定。电镜分析发现组织蛋白酶K基因缺失的载脂蛋白E^{-/-}小鼠斑块中的胶原成份增加。胶原增加不表现为血管平滑肌成份的增加,而是基质更新和TGF信号通路多个相关基因的表达上调。这提示组织蛋白酶K缺乏增加斑块纤维化不仅通过降低蛋白水解酶活性,还与激活基质更新和TGF信号通路的相关基因有关^[14]。

2.3 组织蛋白酶K对泡沫细胞形成的影响

组织蛋白酶K不仅影响粥样斑块的细胞外基质,也影响到泡沫细胞的形成。在小鼠模型中,缺乏组织蛋白酶K会增加肌浆网对 α -LDL的摄入,增加巨噬细胞对胆固醇酯的储存^[1]。缺乏组织蛋白酶K时,电镜下可见巨噬细胞源的泡沫细胞溶酶体增大。Lutgens等^[1]首先在基因敲除小鼠模型上证实缺乏组织蛋白酶K致脂质摄入增加是由小凹蛋白和CD36介导,而不是通过传统的清道夫受体A(scavenger receptor A, SR-A)和SR-Biv/④。接着又发现裂解小凹蛋白和抑制CD36能减少组织蛋白酶K基因敲除的载脂蛋白E^{-/-}小鼠对 α -LDL摄入^[1,14,16]。这些实验提示组织蛋白酶K可能通过抑制小凹蛋白和CD36通路而减少巨噬细胞对 α -LDL等脂质的摄入。

组织蛋白酶K还能调节细胞内胆固醇的流出。pH 5~6的酸性环境下组织蛋白酶K抑制载脂蛋白A1介导的胆固醇流出^[1]。Lindstedt等^[15]亦发现组织蛋白酶K能降解载脂蛋白A1,使胆固醇流出减少15%。因为组织蛋白酶K在抑制胆固醇流出过程中只起间接作用,故虽缺乏组织蛋白酶K时胆固醇流出会增加,但不足以对抗泡沫细胞的形成。Lutgens等^[16]最新研究却发现组织蛋白酶K基因敲除小鼠中由高密度脂蛋白和载脂蛋白A1介导的胆固醇流出分别减少

20%和15%。这两种说法似乎是矛盾的,但前者组织蛋白酶K减少胆固醇流出的作用是通过降解细胞外载脂蛋白A1,后者则反映的是细胞内缺乏组织蛋白酶K对胆固醇流出的影响。细胞外组织蛋白酶K水平增加可能通过减少胆固醇受体的数量抑制胆固醇流出,而细胞内缺乏组织蛋白酶K降低胆固醇逆转运输能力从而抑制胆固醇流出,后者不依赖细胞外胆固醇受体的降解^[15]。故组织蛋白酶K可通过调节细胞内胆固醇流出影响泡沫细胞的形成。

上述研究提示,组织蛋白酶K高表达在As的发生发展中可能扮演了双重作用。一方面可能增加As病变的易损性,促进其发生发展;另一方面却有抑制泡沫细胞形成,抗As作用。在As病变早期,组织蛋白酶K表达增加,此时主要作用于巨噬细胞,并通过抑制小凹蛋白和CD36的活性从而抑制巨噬细胞向泡沫细胞转化;随着As病变的形成和进展,巨噬细胞不断摄取脂质进而转化为泡沫细胞,泡沫细胞崩解,脂质侵入至内膜下,刺激纤维组织增生,形成纤维帽,覆盖沉积的脂质,修复内膜损伤。在这一过程中巨噬细胞表达组织蛋白酶K增加,并分泌至细胞外基质,发挥其强大的溶胶原及降解弹性蛋白能力,降解纤维帽抑制内膜损伤修复,从而增加斑块的不稳定性。

3 组织蛋白酶K与其他心血管疾病

3.1 组织蛋白酶K与经皮冠状动脉介入术后再狭窄及新内膜形成

组织蛋白酶参与细胞外基质降解,提示组织蛋白酶在经皮冠状动脉介入术(percutaneous coronary intervention, PCI)后再狭窄和新内膜形成中可能有一定的作用。在正常饮食小鼠颈动脉球囊损伤再狭窄模型中的研究^[17]显示,在球囊损伤后形成的颈动脉新生内膜中组织蛋白酶K mRNA及蛋白均表达上调,同时促弹力组织溶解活性增加。组织蛋白酶K在新内膜形成和支架再狭窄中的高水平表达提示其参与新内膜形成,其对细胞外基质的降解可能促进平滑肌细胞与巨噬细胞由中膜向内膜的迁移和侵入,并藉此导致血管重塑。

3.2 组织蛋白酶K与主动脉瘤

因为参与细胞外基质降解,组织蛋白酶K可能在主动脉瘤形成过程中起重要作用。腹主动脉瘤的生长和破裂源于胶原更新,胶原更新受特异性胶原酶的精密调节。mRNA与蛋白分析发现组织蛋白酶K是腹主动脉瘤生长、破裂过程中主要的胶原酶之一,腹主动脉瘤患者组织蛋白酶K活性水平较健康对照组上升5倍^[18]。石国平等^[19]发现,正常血管几乎无组织蛋白酶K,而动脉瘤病变处的巨噬细胞却含大量具有免疫活性的组织蛋白酶K;主动脉内膜的平滑肌细胞也表达组织蛋白酶K,横穿内弹力层而来的内膜平滑肌细胞组织蛋白酶K含量更高。组织蛋白酶K可降解细胞外基质的iv、③和④型胶原及层粘连蛋白、纤连蛋白等,对其机制进行动力学研究发现,组织蛋白酶K的降弹力胶原作用贯穿于酶的吸收及两个易感肽的结合、水解和吸附的全过程^[20]。组织蛋白酶K既能以非活性形式吸附于弹力蛋白表面,并通过重排形成有活性的催化复合物;又能以活性形式

与可溶性弹力蛋白直接结合^[20], 导致动脉弹力中层降解, 发生血管重塑, 促进动脉瘤形成或激发其破裂。

3.3 组织蛋白酶 K 与瓣膜病

Satu 等^[21]发现组织蛋白酶 K 参与主动脉瓣膜狭窄的致病过程。组织蛋白酶 K 能降解瓣膜中的弹力蛋白, 破坏瓣膜细胞外基质合成和降解的平衡, 导致病理重塑与瓣叶僵化。钙化是瓣叶僵化的主要原因, 可导致主动脉瓣严重狭窄, 后者常迅速合并血流动力学障碍。硬化的主动脉瓣膜会发生钙化不全甚至软骨内成骨障碍与骨重塑。目前认为组织蛋白酶 K 作为骨基质重塑的主要蛋白酶, 与正常瓣膜相比, 在钙化的主动脉瓣膜中 mRNA 表达水平明显上调, 蛋白活性增加, 提示组织蛋白酶 K 能发挥其在骨代谢中类似的作用, 在主动脉瓣膜中调节钙化与骨的重吸收。在主动脉瓣狭窄的致病过程中, 组织蛋白酶 K 可能具有双重效应, 一方面降解弹力蛋白, 促进新生血管形成导致病变进展; 另一方面重吸收终末期硬化瓣膜的骨质结构, 作为一种保护机制限制病变进展。

3.4 组织蛋白酶 K 与血脂异常

组织蛋白酶 K 还可能与血脂异常相关。组织蛋白酶 K 基因敲除的载脂蛋白 E^{-/-} 小鼠显示了一个脂质紊乱的趋势, 表现为总胆固醇、低密度脂蛋白和甘油三酯水平增加^[10], 提示组织蛋白酶 K 高表达似乎对血脂产生不利影响。有学者认为联合使用组织蛋白酶 K 抑制剂和调脂药如 HMG-CoA 还原酶抑制剂对于稳定斑块及治疗 As 可能更为有效^[1]。

4 展望

综上所述, 组织蛋白酶 K 在多种心血管疾病的致病过程中起重要作用。抑制组织蛋白酶 K 活性可减少细胞外基质的降解, 促进斑块纤维化, 可能有助于延缓斑块进展, 增加斑块的稳定性, 同时可能有助于防止主动脉瘤的进展和破裂。尽管已有许多药品公司致力于组织蛋白酶 K 抑制剂的开发, 但他们主要研究的是其在骨质疏松症和骨关节炎中的疗效。组织蛋白酶 K 抑制剂是否能用于 As 等心血管疾病的治疗目前尚无相关资料。最近有研究提示组织蛋白酶可作为 As 的一项诊断指标。组织蛋白酶 L 在至少一支冠状动脉狭窄 10% 的 As 患者中的血清水平显著高于无冠状动脉狭窄者^[2]。与无冠状动脉狭窄者相比, 血清组织蛋白酶 S 的水平在冠状动脉狭窄的 As 患者中亦显著升高^[22], 但血清组织蛋白酶 K 是否也存在类似变化还需进一步研究。阐明组织蛋白酶 K 与 As 之间的关系, 可能为冠心病的防治提供新的研究思路和治疗靶点。

[参考文献]

- [1] Lutgens E, Lutgens SP, Faber BC, et al. Disruption of the cathepsin K gene reduces atherosclerosis progression and induces plaque fibrosis but accelerates

- macrophage foam cell formation [J]. *Circulation*, 2006, **113** (1): 98-107.
- [2] Liu J, Sukhova GK, Yang JT, et al. Cathepsin L expression and regulation in human abdominal aortic aneurysm, atherosclerosis, and vascular cells [J]. *Atherosclerosis*, 2006, **184** (2): 302-311.
- [3] Taleb S, Lacasa D, Bastard JP, et al. Cathepsin S, a novel biomarker of adiposity: relevance to atherogenesis [J]. *FASEB J*, 2005, **19** (11): 1 540-542.
- [4] Chen J, Tung CH, Mahmood U, et al. In vivo imaging of proteolytic activity in atherosclerosis [J]. *Circulation*, 2002, **105** (23): 2 766-771.
- [5] Yasuda Y, Kaleta J, Brämme D. The role of cathepsins in osteoporosis and arthritis: rationale for the design of new therapeutics [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2005, **57** (7): 973-993.
- [6] 刘玉胜, 鹿庆华, 蒋卫东. 组织蛋白酶与细胞外基质重塑[J]. *基础医学与临床*, 2006, **26** (9): 1 037-040.
- [7] Fach EM, Garulacan LA, Gao J, et al. In vitro biomarker discovery for atherosclerosis by proteomics [J]. *Mol Cell Proteomics*, 2004, **3** (12): 1 200-210.
- [8] Fratz-Zelman N, Valenta A, Roschger P, et al. Decreased bone turnover and deterioration of bone structure in two cases of pycnodysostosis [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004, **89** (4): 1 538-547.
- [9] 吴艳, 王毅, 杨刚毅. 组织蛋白酶 K 与骨质疏松的研究进展[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2006, **12** (5): 522-524.
- [10] Bromme D, Okamoto K, Wang BB, et al. Human cathepsin O₂: a matrix protease-degrading cysteine protease expressed in osteoclasts, functional expression of human cathepsin O₂ in *Spodoptera frugiperda* and characterization of the enzyme [J]. *J Biol Chem*, 1996, **271** (1): 2 126-132.
- [11] Garnero P, Borel O, Byrjalsen I, et al. The collagenolytic activity of cathepsin K is unique among mammalian proteinases [J]. *J Biol Chem*, 1998, **273** (48): 32 347-352.
- [12] Platt MO, Ankeny RF, Shi GP, et al. Expression of cathepsin K is regulated by shear stress in cultured endothelial cells and is increased in endothelium in human atherosclerosis [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2007, **292** (3): 1 479-486.
- [13] Sukhova GK, Shi GP, Simon DI, et al. Expression of the elastolytic cathepsins S and K in human atheroma and regulation of their production in smooth muscle cells [J]. *J Clin Invest*, 1998, **102** (3): 576-583.
- [14] Lutgens SP, Kisters N, Lutgens E, et al. Gene profiling of cathepsin K deficiency in atherogenesis: profibrotic but lipogenic [J]. *J Pathol*, 2006, **210** (3): 334-343.
- [15] Lindstedt L, Lee M, Olmi K, et al. Cathepsins F and S block HDL₃-induced cholesterol efflux from macrophage foam cells [J]. *J Biochem Biophys Res Commun*, 2003, **312** (4): 1 019-024.
- [16] Lutgens SP, Cleutjens KB, Daemen MJ, et al. Cathepsin cysteine proteinases in cardiovascular disease [J]. *FASEB J*, 2007, **21** (12): 3 029-041.
- [17] Cheng XW, Kuzuya M, Sasaki T, et al. Increased expression of elastolytic cysteine proteases, cathepsins S and K, in the neointima of balloon-injured rat carotid arteries [J]. *Am J Pathol*, 2004, **164** (1): 243-251.
- [18] Abdul-Hussien H, Soekhoe RG, Weber E, et al. Collagen degradation in the abdominal aneurysm: a conspiracy of matrix metalloproteinase and cysteine collagenases [J]. *Am J Pathol*, 2007, **170** (3): 809-817.
- [19] Shi GP, Sukhova GK, Grubb A, et al. Cystatin C deficiency in human atherosclerosis and aortic aneurysms [J]. *J Clin Invest*, 1999, **104** (9): 1 191-197.
- [20] Satu H, Suvi Sr, Ken AL, et al. Increased expression of elastolytic cathepsin S, K and V valves [J]. *J Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006, **26**: 1 971-798.
- [21] Helske S, Syväntä S, Lindstedt KA, et al. Increased expression of elastolytic cathepsins S, K, and V and their inhibitor cystatin C in stenotic aortic valves [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006, **26** (8): 1 791-798.
- [22] Liu J, Ma L, Yang JT, et al. Increased serum cathepsin S in patients with atherosclerosis and diabetes [J]. *Atherosclerosis*, 2006, **186** (2): 411-419.

(此文编辑 许雪梅)